

Efeitos do cromo hexavalente sobre o crescimento de raízes e ciclo celular no meristema da ponta da raiz de *Allium cepa*

Mary Helen Pestana da Costa¹, Priscila Cordeiro Costa da Silva², Carlos Alberto Machado da Rocha³

1. Bióloga (Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará). Mestranda em Genética e Biologia Molecular (Universidade Federal do Pará, Brasil).

2. Acadêmica de Ciências Biológicas (Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Brasil).

3. Biólogo e Doutor em Neurociências e Biologia Celular (Universidade Federal do Pará). Professor do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Brasil.

*Autora para correspondência: mary_h_pc@hotmail.com

RESUMO. O Cromo hexavalente [Cr (VI)] é classificado pela Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer (IARC) como cancerígeno para os seres humanos. A principal fonte de contaminação ambiental pelo cromo em ecossistemas aquáticos está relacionada com a aplicação industrial deste metal. No presente estudo, foram avaliados os efeitos citotóxicos e genotóxicos do Cr (VI) no ciclo celular de células do meristema da raiz de *Allium cepa*. O teste foi usado para avaliar efeitos do cromo na germinação de sementes, alongamento das raízes, índice mitótico e indução de micronúcleos e anomalias do ciclo mitótico. Sementes de *A. cepa* foram germinadas em cinco diferentes condições: (1) controle negativo, água destilada; (2) grupo T1, tratado com dicromato de potássio a 6 mg.L⁻¹; (3) grupo T2, tratado com dicromato de potássio a 12 mg.L⁻¹; (4) grupo T3, tratado com dicromato de potássio a 24 mg.L⁻¹; (5) controle positivo, tratado com NMU (N-nitroso-N-metilureia) a 0,125 mg.L⁻¹. As análises estatísticas efetuadas foram ANOVA e coeficiente de correlação de Pearson. Mesmo sem afetar o índice de germinação de sementes e o alongamento das raízes, os resultados demonstraram efeitos citotóxicos sobre o índice mitótico, bem como efeitos genotóxicos do cromo hexavalente.

Palavras-chave: Cromo, *Allium cepa*, ciclo celular, citotoxicidade, genotoxicidade.

Effects of hexavalent chromium on root growth and cell cycle in *Allium cepa* root tip meristem

ABSTRACT. The International Agency Research on Cancer (IARC) classifies the hexavalent chromium [Cr (VI)] as carcinogenic to humans. The major source of environmental contamination by chromium in aquatic ecosystems is related to industrial application of this metal. In this study, we evaluated the cytotoxic and genotoxic effects of Cr (VI) in cell cycle meristem of *Allium cepa* root. The test was used to evaluate the effects of chromium on seed germination, root elongation, mitotic index and the induction of micronuclei and anomalies of the mitotic cycle. *Allium cepa* seeds were germinated in five different conditions: (1) negative control, distilled water; (2) test group T1, treated with potassium dichromate 6 mg.L⁻¹; (3) test group T2, treated with potassium dichromate 12 mg.L⁻¹; (4) test group T3, treated with potassium dichromate 24 mg.L⁻¹; (5) positive control, treated with NMU (N-nitroso-N-methylurea) 0,125 mg.L⁻¹. The statistical analyses used were ANOVA and Pearson's correlation coefficient. Though without affecting the seed germination rate and elongation of roots, the results demonstrated cytotoxic effects on the mitotic index, as well as genotoxic effects of hexavalent chromium.

Keywords: Chromium; *Allium cepa*; cell cycle; cytotoxicity; genotoxicity.

1. Introdução

A contaminação ambiental com compostos contendo metais pesados é um assunto preocupante, uma vez que, juntamente com o seu elevado potencial de toxicidade, eles são susceptíveis de bioacumulação e podem induzir danos no material genético (PRÁ et al., 2006; ARANTES et al., 2016). O cromo existe no ambiente sob dois principais estados de oxidação: Cr³⁺ [Cr (III)], menos tóxico e que predomina sob condições ácidas e redutoras; Cr⁶⁺ [Cr (VI)], mais móvel e tóxico, que prevalece em condições alcalinas e oxidantes (BOUROTTE et al., 2009). Grandes fontes de Cr (VI) constituem o dicromato de potássio e o dicromato de sódio, os quais são usados na indústria de cromo, fabricação de pigmentos e corantes, curtumes, preparação de antissépticos, limpeza de vidraria de laboratório e como um titulante redox (PRIETO et al., 2008; MAGRO et al., 2013).

O cromo hexavalente [Cr (VI)] tem alta solubilidade, também é biologicamente reativo, altamente tóxico e genotóxico, podendo ser letal (ROCHA et al., 2011). O cromo pode causar diversos tipos de danos ao DNA incluindo danos oxidativos, quebras de fitas duplas que resultam em aberrações cromossômicas e formação de micronúcleos além de causar alterações nos processos de replicação e transcrição e formação de adutos de DNA (MATSUMOTO et al., 2006; ARAKAWA et al., 2012). De

acordo com a Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (IARC - International Agency for Research on Cancer), o cromo hexavalente [Cr (VI)] é classificado no grupo 1, ou seja, considerado como cancerígeno para humanos (IARC, 2012).

Nos bioensaios com *Allium cepa*, após exposição por certo período, é possível avaliar tanto os efeitos citotóxicos pela redução do crescimento de raízes ou decréscimo do índice mitótico, quanto os efeitos genotóxicos pela análise de micronúcleos ou de anomalias na divisão celular (alterações no ciclo mitótico) (FISKESJÖ; LEVAN, 1994; CHANDRA et al., 2005). O teste de aberrações cromossômicas em raiz de *Allium* (AL-RAA- *Allium* root chromosome aberration assay) foi validado em 1991, pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS - International Programme on Chemical Safety) sob os auspícios da Organização Mundial de Saúde (WHO - World Health Organization) e do Programa das Nações Unidas para o Ambiente (UNEP - United Nations Environment Programme). Este bioensaio provou ser um teste eficiente para o screening de produtos químicos, especialmente para monitoramento da genotoxicidade de poluentes ambientais (CABRERA; RODRIGUEZ, 1999).

Pesquisas sobre o efeito do cromo hexavalente no comportamento cromossômico em células de plantas são muito raras (CHIDAMBARAM et al., 2009), de modo que a

presente investigação tem como objetivo avaliar o efeito de diferentes concentrações de cromo hexavalente sobre o índice mitótico e a frequência de alterações cromossômicas no meristema da raiz de *Allium cepa*. Em acréscimo, também são analisados seus efeitos sobre a taxa de germinação de sementes e o alongamento das raízes.

2. Material e Métodos

Procedimento Experimental

Adotou-se um delineamento experimental inteiramente casualizado com três repetições, sendo cada parcela experimental uma placa de Petri. As propriedades tóxicas do cromo [Cr (VI)] foram testadas em cebola (*Allium cepa*), utilizando soluções de dicromato de potássio ($K_2Cr_2O_7$). As concentrações utilizadas foram adotadas a partir de Normann et al. (2008) e Rocha et al. (2011). As etapas do teste utilizando-se *Allium cepa* foram realizadas no Laboratório de Biologia Aquática do IFPA e o protocolo seguido teve como suporte as metodologias dos trabalhos de Iganci et al. (2006), Cruz e Santos (2012), Paixão e Costa (2013) e Hou et al. (2014).

Cultivo de Sementes de Cebola

Para a germinação das sementes de *Allium cepa*, placas de Petri foram preparadas utilizando papel filtro como substrato. Em cada placa foram colocadas para germinar 50 sementes. Todas as placas foram submetidas a condições semelhantes às naturais (Temperatura ambiente média de 24,5°C, Umidade Relativa Média de 80%), expostas à luz diariamente por 1h e tratadas de acordo com o grupo em questão durante cinco dias, obtendo-se radículas com tamanhos acima de cinco milímetros. Os grupos foram identificados como: Grupo Controle Negativo (CN), com sementes tratadas diariamente com água destilada; Grupos Tratamento T1, T2 e T3, em que as sementes foram tratadas com soluções de dicromato de potássio a 6 mg.L⁻¹, 12 mg.L⁻¹ e 24 mg.L⁻¹, respectivamente; Grupo Controle Positivo (CP), sementes tratadas com solução de N-metil-N-nitrosourea (MNU) a 0,125 mg.L⁻¹.

Preparação e Observação das Lâminas

Após a germinação, as raízes de cebola foram coletadas, preparadas por meio da técnica de esmagamento (GUERRA; SOUZA, 2002) e fixadas em solução Carnoy (metanol: ácido acético = 3:1, V/V) por 24 horas. Para o preparo das lâminas, as raízes foram retiradas do fixador e lavadas três vezes com água destilada. Após a lavagem, foram hidrolisadas em solução de ácido clorídrico (HCl) 1N por 20 minutos e novamente lavadas três vezes com água destilada. Em seguida as raízes foram cortadas na superfície das lâminas e coradas com solução de Orceína Acética 2% (0,4 g orceína, 11 mL de água destilada e 9 mL de ácido acético) por 10 minutos e depois foi colocada a lâminula pressionando com o polegar. As lâminas foram examinadas com microscópio Opton modelo TNB-41T-PL.

Análises de Citotoxicidade e Genotoxicidade

Foram analisadas 5000 células / réplica / tratamento, observando-se o número de células em cada fase da mitose (prófase, metáfase, anáfase e telófase). O índice mitótico (IM) foi obtido através da seguinte equação (PIRES et al., 2001): $IM = (m/T) \times 100$, sendo que m = número de células em mitose e T = número total de células analisadas.

As mesmas lâminas foram utilizadas para a contagem das alterações no ciclo celular. Além dos micronúcleos (MN), considerados como anomalias interfásicas (AI), foram também consideradas as seguintes anomalias do ciclo mitótico (ACM): ponte anafásica (PA), ponte telofásica (PT), cromossomo vagante (CV) e metáfase irregular (MI) (PINHO et al., 2010; CABARAVDIC, 2010; PAIXÃO; COSTA, 2013).

Análise Estatística

Análises de variância (ANOVA) foram utilizadas para testar os dados obtidos no índice de germinação de sementes, crescimento de raízes e efeitos genotóxicos do cromo [Cr (VI)] na formação de micronúcleos e de anomalias no ciclo mitótico. O coeficiente de correlação de Pearson (r) foi empregado para verificar correlação entre os tratamentos e o índice mitótico dos grupos. As análises estatísticas foram efetuadas com o software estatístico BioEstat 5.0 (AYRES et al., 2007).

3. Resultados e Discussão

Efeitos do Cromo na Germinação de Sementes e Alongamento das Raízes

Embora tenha sido observada discreta diminuição da taxa de germinação nos grupos tratados em relação ao controle negativo, a diferença não foi significativa ($p = 0,4281$). De modo semelhante, mesmo com aparente diminuição no alongamento das raízes nos grupos tratados quando comparados ao controle negativo, as diferenças entre as médias dos comprimentos das raízes de *Allium cepa* não foram significativas ($p = 0,0569$). É possível que o tempo de exposição ao cromo não tenha sido suficiente para desencadear diferenças significativas. Na literatura, há relatos de experimentos semelhantes com plantas utilizando diferentes tempos de exposição: três dias (ZOU et al., 2006); sete dias (GRISI et al., 2011); 12 dias (IGANCI et al., 2006). No trabalho de Zou et al. (2006), com *Amaranthus viridis*, observou-se taxa de germinação e crescimento de raízes dentro da normalidade, mesmo em solo com alta concentração de cromo.

Efeitos do Cromo no Índice Mitótico

A frequência de divisões celulares no meristema da raiz de cebola foi determinada pelo índice mitótico (IM). Observou-se decréscimo no IM nos grupos tratados (Tabela 1), apresentando forte correlação negativa com a concentração de dicromato de potássio ($r[\text{Pearson}] = -0,9741$; $R^2 = 0,9489$; $p = 0,0259$). Isso mostra que a citotoxicidade induzida pelo cromo interferiu no ciclo celular.

Tabela 1. Frequências de fases do ciclo celular (média \pm desvio padrão) e Índice Mitótico (IM) em células radiculares de *Allium cepa*. T1=grupo tratado com dicromato de potássio a 6 mg.L⁻¹; T2=grupo tratado com dicromato de potássio a 12 mg.L⁻¹; T3=grupo tratado com dicromato de potássio a 24 mg.L⁻¹. / **Table 1.** Frequencies of cell cycle phases (mean \pm standard deviation) and Mitotic Index (IM) in root cells of *Allium cepa*. T1 = group treated with potassium dichromate 6 mg.L⁻¹; T2 = group treated with potassium dichromate 12 mg.L⁻¹; T3 = group treated with potassium dichromate 24 mg.L⁻¹.

	Controle negativo	Tratamento (T1)	Tratamento (T2)	Tratamento (T3)	Controle positivo
Interfases	4829 \pm 31,822	4835 \pm 17,146	4842,66 \pm 53,853	4848 \pm 38,755	4801 \pm 15,253
Prófases	105,33 \pm 13,719	77,33 \pm 25,302	79,33 \pm 32,427	70 \pm 24,711	90,33 \pm 15,412
Metáfases	17 \pm 2,828	24,66 \pm 6,236	23 \pm 7,874	27 \pm 8,524	39,33 \pm 18,153
Anáfases	22,33 \pm 10,077	15 \pm 5,354	21,66 \pm 9,463	22,33 \pm 11,897	23,66 \pm 1,247
Telófases	26,33 \pm 7,586	48 \pm 12,328	33,33 \pm 16,539	32,66 \pm 12,119	45,66 \pm 5,906
IM (%)	3,42	3,30	3,15	3,04	3,98
Total de células analisadas	15 000	15 000	15000	15 000	15 000

Srivastava e Jain (2011) investigaram os efeitos citotóxicos de concentrações crescentes de Cr (VI) em um cultivo de cana-de-açúcar Colk8102 (híbrido de espécies de *Saccharum*), através de um ensaio com o meristema do ápice da raiz em estágio inicial de crescimento. O IM diminuiu com o aumento da concentração do cromo. A diminuição no IM foi observada em todas as concentrações de cromo, indicando, assim, um efeito mito depressivo dos tratamentos sobre a atividade mitótica nas células do meristemada raiz. Liu et al. (1992) estudaram os efeitos do Cr (III) e Cr (IV) no crescimento da raiz, na divisão celular e morfologia dos cromossomos de *A. cepa*. O IM diminuiu progressivamente com o aumento da concentração de cromo e duração do tratamento. Além disso, foi observado efeito mais acentuado do Cr (IV).

Na realidade, o potencial citotóxico do cromo hexavalente em baixas concentrações nem sempre tem sido confirmado. No trabalho de Chidambaram et al. (2009), realizado com *Vigna mungo*, por exemplo, verificou-se que o aumento da concentração de Cr (VI) foi acompanhado pela diminuição da porcentagem de germinação e do comprimento de raízes. Entretanto, houve elevação gradual do índice mitótico.

Diversos autores sugerem que os sistemas de ensaio de plantas são úteis para estudar a citotoxicidade e genotoxicidade de metais pesados (MORAES; JORDÃO, 2001; UNYAYAR et al., 2006; ARYA et al., 2013). Porém é

importante ressaltar que estudos com *A. Cepa* mostram que nem sempre a toxicidade está correlacionada com a genotoxicidade, porque alterações relacionadas com o crescimento da raiz e IM são parâmetros indicativos de citotoxicidade. Por outro lado, alterações como anomalias cromossômicas e micronúcleos indicam genotoxicidade (FISKESJÖ, 1985).

Efeitos Genotóxicos do Cromo

Todos os tratamentos promoveram maiores frequências de formação de micronúcleos quando comparados ao controle negativo. Com exceção de T3 (exposição à solução de dicromato de potássio 24 mg.L⁻¹), os tratamentos resultaram em frequências de micronúcleos significativamente maiores ($p = 0,0397$). As células micronucleadas apresentaram de 1 a 5 micronúcleos (Figura 1). Os maiores números de micronúcleos por célula ocorreram em T3 e CP. É possível que o tratamento com a maior concentração de Cr (VI) tenha sido tóxico o suficiente tanto para reduzir a ocorrência de mitoses quanto para induzir a morte de células com maior grau de danos, minimizando os achados de células micronucleadas neste grupo de tratamento. Na Figura 1 também são apresentadas algumas anomalias do ciclo mitótico, as quais se mostraram significativamente aumentadas em todos os grupos tratados, porém sem demonstrar efeito dose-dependente.

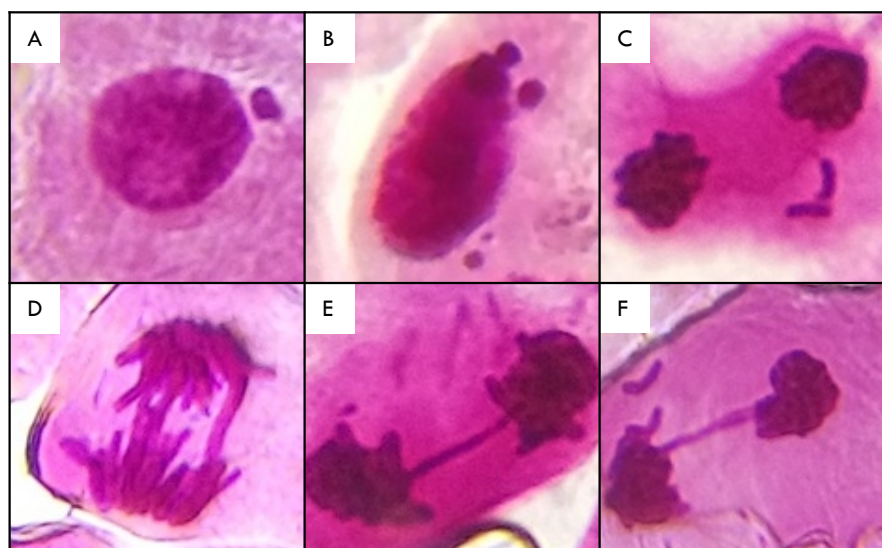


Figura 1. Exemplos de anomalias do ciclo celular no meristema de raízes de *Allium cepa* tratadas com dicromato de potássio: (A e B) micronúcleos; (C) cromossomo vagante; (D) ponte anafásica; (E) ponte telofásica; (F) cromossomo vagante + ponte telofásica. / **Figure 1.** Examples of cell cycle abnormalities found in roots meristem cells of *Allium cepa* treated with potassium dichromate: (A and B) micronuclei; (C) vagrant chromosome; (D) anaphase bridge; (E) telophase bridge; (F) vagrant chromosome + telophase bridge.

Na Figura 2, todos os tipos de anomalias mitóticas foram reunidos em cada grupo de tratamento. Na Tabela

2 são apresentados os resultados da aplicação de análise de variância para cada tipo de anomalia mitótica.

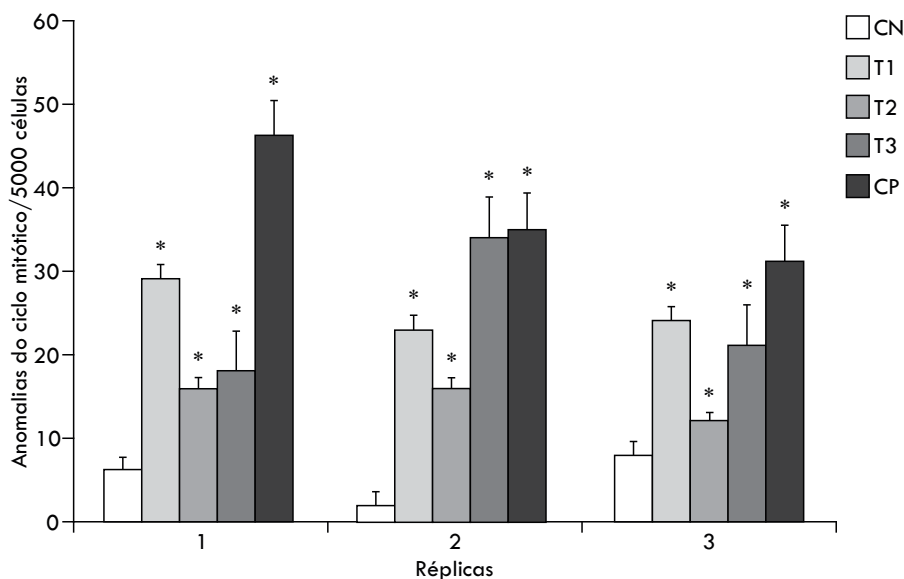


Figura 2. Frequências de anomalias do ciclo mitótico no meristema da raiz de *Allium cepa* (5000 células / réplica / tratamento). CN=grupo controle negativo; T1=grupo tratado com dicromato de potássio a 6 mg.L⁻¹; T2=grupo tratado com dicromato de potássio a 12 mg.L⁻¹; T3=grupo tratado com dicromato de potássio a 24 mg.L⁻¹; CP=grupo controle positivo. Barras verticais indicam EP. Asteriscos representam diferença significativa em relação ao controle negativo. / **Figure 2.** Frequencies of mitotic cycle abnormalities in the meristem of *Allium cepa* root (5000 cells / replica / treatment). CN = negative control group; T1 = group treated with potassium dichromate 6 mg.L⁻¹; T2 = group treated with potassium dichromate 12 mg.L⁻¹; T3 = group treated with potassium dichromate 24 mg.L⁻¹; CP = positive control group. Vertical bars indicate SE. Asterisks represent significant difference compared to the negative control.

Tabela 2. Resultados do ANOVA para anomalias do ciclo mitótico. Os valores apresentados correspondem ao p-valor obtido na ANOVA para a frequência de cada anomalia, comparando o grupo controle negativo com cada tratamento. PA = ponte anafásica; PT = ponte telofásica; MI = mitose irregular; CV = cromossomo vagante. Asteriscos representam diferença significativa em relação ao controle negativo ($p < 0,05$). / **Table 2.** Results of ANOVA for mitotic cycle abnormalities. The values shown correspond to the p-value obtained in the ANOVA for the frequency of each abnormality by comparing the negative control group with each treatment. PA = anaphase bridge; PT = telophase bridge; MI = irregular mitosis; CV = vagrant chromosome. Asterisks represent significant difference compared to the negative control ($p < 0,05$).

Anomalias no ciclo mitótico	Tratamentos			
	T1	T2	T3	CP
PA	0,6446	0,3758	0,6446	0,9955
PT	0,0144*	0,2045	0,1084	0,0495*
MI	0,1919	0,9955	0,2978	0,1752
CV	0,0143*	0,0117*	0,2474	0,0495*

Cromossomos vagantes e pontes telofásicas foram as anomalias do ciclo mitótico que apresentaram maiores diferenças de frequência entre o controle negativo e os tratamentos. Por outro lado, as frequências de pontes anafásicas e mitoses irregulares nos grupos tratados não diferiram significativamente do controle negativo.

Micronúcleos resultam de fragmentos cromossômicos acêntricos ou cromossomos inteiros que não completam a migração anafásica da divisão celular. Algumas células de cebola exibiram a perda de fragmentos ou cromossomos inteiros, que persistiram até a telófase, provavelmente resultando em micronúcleos. Estes resultados concordam com os obtidos por Matsumoto et al. (2006), que avaliaram efeitos do cromo em eritrócitos de peixe e meristema de *Allium cepa*, e relataram a indução de cromossomos atrasados durante a anáfase envolvendo danos no fuso mitótico e consequente produção de micronúcleos.

Diversas plantas superiores, como *A. cepa*, *Tradescantia paludosa*, *Vicia faba* e *Vigna mungo*, têm cromossomos relativamente grandes, monocêntricos, em número reduzido e são aceitas como organismos adequados em ensaios para o estudo da mutagênese ambiental (KONG;

MA, 1999; MORAES; JORDÃO, 2001; CHIDAMBARAM et al., 2009). A vantagem de se utilizar as raízes de plantas nos bioensaios se deve ao fato de que elas são as primeiras a ficarem expostas às variações de composição do solo e da água (FISKESJÖ, 1988).

Chidambaram et al. (2009) estudaram os efeitos de diferentes concentrações de cromo hexavalente nas células da raiz de *Vigna mungo*. Os autores verificaram um aumento gradual da percentagem de aberrações cromossômicas com o aumento da concentração de cromo hexavalente, e, portanto, efeito genotóxico nas células do meristema radicular.

4. Conclusão

Conclui-se que, nas condições de nosso experimento, o cromo não afetou a taxa de germinação e o crescimento das radículas, o que talvez possa ocorrer se o tratamento for realizado por tempo mais prolongado. Por outro lado, a exposição ao dicromato de potássio demonstrou significativos efeitos citotóxicos e, principalmente genotóxicos do cromo hexavalente. Os achados sugerem que o dicromato de potássio é um clastogênico e aneugênico, bem como citotóxico.

5. Referências Bibliográficas

- ARAKAWA, H.; WENG, M.-W.; CHEN, W.-C.; TANG, M.-S. Chromium (VI) induces both bulky DNA adducts and oxidative DNA damage at adenines and guanines in the p53 gene of human lung cells. **Carcinogenesis**, v. 33, n. 10, p. 1993-2000, 2012.
- ARANTES, F. P.; SAVASSI, L. A.; SANTOS, H. B.; GOMES, M. V. T.; BAZZOLI, N. Bioaccumulation of mercury, cadmium, zinc, chromium, and lead in muscle, liver, and spleen tissues of a large commercially valuable catfish species from Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 88, n. 1, p. 137-147, 2016.
- ARYA, S. K.; BASU, A.; MUKHERJEE, A. Lead induced genotoxicity and cytotoxicity in root cells of *Allium cepa* and *Vicia faba*. **The Nucleus**, v. 56, n. 3, p. 183-189, 2013.
- AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D. O. S.; SANTOS, A.S. **BioEstat 5.0**: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém: Ministério da Ciência e Tecnologia; Instituto de Desenvolvimento Sustentável Mamirauá; CNPq, 364 p., 2007.
- BOUROTTE, C.; BERTOLO, R.; ALMODOVAR, M.; HIRATA, R. Natural occurrence of hexavalent chromium in a sedimentary aquifer in the State of São Paulo, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 81, n.2, p.227-242, 2009.
- CABARAVDIC, M. Induction of chromosome aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of cells to Benzo (a) pyrene. **Medical Archives**, v. 64, n. 4, p. 215-218, 2010.
- CABRERA, G. L.; RODRIGUEZ, D. M. G. Genotoxicity of soil from farmland irrigated with wastewater using three plant bioassays. **Mutation Research**, v. 426, n.6, p. 211-214, 1999.
- CHANDRA, S.; CHAUHAN, L. K. S.; MURTHY, R. C.; SAXENA, P. N.; PANDE, P. N.; GUPTA, S. K. Comparative biomonitoring of leachates from hazardous solid waste of two industries using *Allium* test. **Science of the Total Environment**, v. 347, n. 1-3, p. 46-52, 2005.
- CHIDAMBARAM, A.; SUNDARAMOORTHY, P.; MURUGAN, A.; SANKAR GANESH, K.; BASKARAN. L. Chromium induced cytotoxicity in blackgram (*Vigna mungo* L.). **Iranian Journal of Environmental Health Science & Engineering**, v. 6, n. 1, p. 17-22, 2009.
- CRUZ, A. D. Q.; SANTOS, L. E. **Análise citogenética do extrato aquoso de Boldo (*Plectranthus barbatus* Andrews – Lamiaceae) a partir do teste de *Allium cepa***. 2012. 77 f. Trabalho Acadêmico de Conclusão (Graduação em Biologia) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará, Belém, 2012.
- EGITO, L. C. M.; MEDEIROS, M. G.; MEDEIROS, S. R. B.; AGNEZ-LIMA, L. F. Cytotoxic and genotoxic potential of surface water from the Pitimbu river, northeastern/RN Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 30, n. 2, p. 435-441, 2007.
- FISKESJÖ, G.; LEVAN, A. Evaluation of the First ten MeIC Chemicals in the *Allium cepa*. Atlas, New York, v. 21, p. 139-149, 1994.
- FISKESJÖ, G. The *Allium* test - a alternative in environmental studies: the relative toxicity of metal ions. **Mutation Research**, v. 197, n. 2, p. 243-260, 1988.
- FISKESJÖ, G. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99-112, 1985.
- GRANT, W. F. Higher plant assays for the detection of chromosomal aberrations and mutations - a brief historical background on their use for screening and monitoring environmental chemicals. **Mutation Research**, v. 426, n. 2, p. 107-112, 1999.
- GRISI, P. U.; GUALTIERI, S. C. J.; RANAL, M. A.; SANTANA, D. G. Efeito alelopático do fruto de *Sapindus saponaria* na germinação e na morfologia de plântulas daninhas e de hortaliças. **Planta daninha**, v. 29, n. 2, p. 311-322, 2011.
- GUERRA, M.; SOUZA, M.J. **Como observar cromossomos**: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana. São Paulo: Funpec, 2002. 131p.
- HOU, J.; LIU, G. N.; XUE, W.; FU, W. J.; LIANG, B. C.; LIU, X. H. Seed germination, root elongation, root-tip mitosis, and micronucleus induction of five crop plants exposed to chromium in fluvo-aquic soil. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 33, n. 3, p. 671-676, 2014.
- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Chromium (VI) Compounds. Volume 100C Lyon, France: International Agency for Research on Cancer, 2012. Disponível em: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol100C/mono100C-9.pdf>.
- IGANCI, J. R. V.; BOBROWSKI, V. L.; HEIDEN, G.; STEIN, V. C.; ROCHA, B. H. G. Efeito do extrato aquoso de diferentes espécies de boldo sobre a germinação e índice mitótico de *Allium cepa* L. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 73, n. 1, p. 79-82, 2006.
- KONG, M. S.; MA, T. H. E. Genotoxicity of contaminated soil and shallow well water detected by plant bioassays. **Mutation Research**, v. 426, n. 2, p. 221-228, 1999.
- LIU, D.; JIANG, W.; LI, M. Effects of trivalent and hexavalent chromium on root growth and cell division of *Allium cepa*. **Hereditas**, v. 117, n. 1, p. 23-29, 1992.
- MAGRO, C. D.; DEON, M. C.; THOMÉ, A.; PACCIN, J. S.; COLLA, L. M. Biossorção passiva de cromo (VI) através da microalga *Spirulina platensis*. **Química Nova**, v. 36, n. 8, p. 1139-1145, 2013.
- MATSUMOTO, S. T.; MANTOVANI, M. S.; MALAGUTTI, M. I. A.; DIAS, A. L.; FONSECA, I. C.; MARIN-MORALES, M. A. Genotoxicity and mutagenicity of water contaminated with tannery effluents, as evaluated by the micronucleus test and comet assay using the fish *Oreochromis niloticus* and chromosome aberrations in onion root-tips. **Genetics and Molecular Biology**, v. 29, n. 1, p. 148-158, 2006.
- MORAES, D. S. L.; JORDÃO, B. Q. Evaluation of the genotoxic potential of municipal waste water discharged into the Paraguay river during periods of flood and drought. **Environmental Toxicology**, v. 16, n. 2, p. 113-116, 2001.
- NORMANN, C.; MOREIRA, J.; CARDOSO, V. Micronuclei in red blood cells of armored catfish *Hypostomus plecostomus* exposed to Potassium Dichromate. **African Journal of Biotechnology**, v. 7, n. 5, p. 893-896, 2008.
- PAIXÃO, K. C. G.; COSTA, M. H. P. **Potencial citotóxico e mutagênico das águas do rio Piraíba (Belém, Pará, Brasil) em células meristemáticas de *Allium cepa***. 2013. 71 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Licenciatura em Ciências Biológicas) – Instituto Federal de Educação Ciência e Tecnologia do Pará, Belém, 2013.
- PINHO, D. S.; STURBELLE, R. T.; MARTINO-ROTH, M. G.; GARCIA, G. L. Avaliação da atividade mutagênica da infusão de *Baccharis trimera* (Less.) DC. em teste de *Allium cepa* e teste de aberrações cromossômicas em linfócitos humanos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v.20, n.2, p.165-170, 2010.
- PIRES, N. D. M.; SOUZA, I. R. P.; PRATES, H. T.; FARIA, T. C. L. D.; PEREIRA FILHO, I. A.; MAGALHÃES, P. C. Efeito do extrato aquoso de leucena sobre o desenvolvimento, índice mitótico e atividade da peroxidase em plântulas de milho. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 13, n. 1, p. 55-65, 2001.
- PRÁ, D.; GUECHEVA, T.; FRANKE, I. R.; KNAKIEVICZ, T.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. Toxicidade e genotoxicidade do sulfato de cobre em planárias de água doce e camundongos. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, v. 1, n. 2, p. 171-175, 2006.
- PRIETO, Z.; LÉON-INCIO, J.; QUIJANO-JARA, C.; FERNÁNDEZ, R.; POLO-BENITES, E.; VALLEJO-RODRÍGUEZ, R.; VILLEGASSANCHEZ, L. Efecto genotóxico del dicromato de potasio en eritrócitos de sangre periférica de *Oreochromis niloticus* (tilapia). **Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública**, v. 25, n. 1, p. 51-58, 2008.
- ROCHA, C. A. M.; GOMES, C. F.; RIBEIRO, R. F. G.; PINHEIRO, R. H. S. Detection of micronuclei and other nuclear abnormalities in *Oreochromis niloticus* exposed to potassium dichromate. **Global Veterinaria**, v. 7, n. 3, p. 301-304, 2011.
- SRIVASTAVA, S. and JAIN, R. *In-situ* monitoring of chromium cytotoxicity in sugarcane. **Journal of Environmental Biology**, v. 32, n. 6, p. 759-763, 2011.
- SRIVASTAVA, R.; KUMAR, D.; GUPTA, S.K. Bioremediation of municipal sludge by vermitechnology and toxicity assessment by *Allium cepa*. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 17, p. 1867-1871, 2005.
- UNYAYAR, S.; ÇELİK, A.; ÇEKİÇ, F.O.; GÖZEL, A. Cadmium-induced genotoxicity, cytotoxicity and lipid peroxidation in *Allium sativum* and *Vicia faba*. **Mutagenesis**, v. 21, n. 1, p. 77-81, 2006.
- ZOU, J.H.; WANG, M.; JIANG, W. S.; LIU, D. H. Effects of hexavalent chromium (VI) on root growth and cell division in root tip cells of *Amaranthus viridis* L. **Pakistan Journal of Botany**, v. 38, p. 673-681, 2006.